

Генетическое разнообразие видов комплекса *Aporrectodea caliginosa* на территории России

С.В. Шеховцов¹, Е.В. Голованова², Н.Э. Базарова¹, Ю.Н. Белова³, Д.И. Берман⁴, Е.А. Держинский⁵,
М.П. Шашков⁶, С.Е. Пельтек¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный педагогический университет», Омск, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Вологодский государственный университет», Вологда, Россия

⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения Российской академии наук, Магадан, Россия

⁵ Учреждение образования «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова», Витебск, Беларусь

⁶ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук, Пушкино, Россия

Дождевые черви комплекса *Aporrectodea caliginosa* – обычные обитатели многих антропогенных и естественных биотопов, нередко доминанты сообществ. Считается, что на территории России встречаются два подвида: *A. c. caliginosa* и *A. c. trapezoides*. В последнее время к этому комплексу относят и вид *Aporrectodea longa*. В статье сделана попытка обобщения полученных материалов о генетическом разнообразии названных таксонов червей, собранных нами в России, а также в некоторых точках Беларуси и Казахстана. Подвид *A. c. caliginosa* на территории России представлен двумя филогенетическими линиями – второй и третьей, при этом последняя доминирует (около 73 % образцов). Кроме того, линии имеют различную распространенность: вторая обнаружена практически на всей исследуемой территории, третья встречалась в небольшом количестве точек на периферии обследованной территории. Генетическая изменчивость червей второй линии заметно выше, чем третьей, а время дивергенции почти в три раза больше. Часть образцов, определенных по степени пигментации как *A. c. caliginosa*, имела гаплотип *cox1 A. c. trapezoides*; результаты анализа ядерных последовательностей подтвердили диагноз. Таким образом, степень пигментации у названного подвида может значительно варьировать. Кроме того, два образца *A. longa* имели последовательности, идентичные последовательностям филогенетической линии 1 этого вида, известной с севера Западной Европы. Это первые случаи выявления в Западной Сибири *A. c. trapezoides* и *A. longa*. Приведенные данные свидетельствуют о том, что в ряду *A. c. caliginosa* – линия 2 – *A. c. caliginosa* – линия 3 – *A. c. trapezoides* и *A. longa* наблюдается снижение и генетической изменчивости и встречаемости.

Ключевые слова: дождевые черви; виды-космополиты; Lumbricidae; Россия; *cox1*; цитохромоксидаза.

Genetic diversity of the *Aporrectodea caliginosa* complex in Russia

S.V. Shekhovtsov¹, E.V. Golovanova²,
N.E. Bazarova¹, Yu.N. Belova³, D.I. Berman⁴,
E.A. Derzhinsky⁵, M.P. Shashkov⁶, S.E. Peltek¹

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Omsk State Pedagogical University, Omsk, Russia

³ Vologda State University, Vologda, Russia

⁴ Institute of Biological Problems of the North FEB RAS, Magadan, Russia

⁵ P.M. Masherov Vitebsk State University, Vitebsk, Republic of Belarus

⁶ Institute of Physicochemical and Biological Problems of Soil Sciences RAS, Pushchino, Russia

Earthworms of the *Aporrectodea caliginosa* species complex are abundant in many anthropogenic and natural habitats and often predominate in earthworm communities. In Russia, there are two subspecies of the complex, *A. c. caliginosa* and *A. c. trapezoides*; *Aporrectodea longa* was also recently mentioned as a putative member of the complex. In this study, we made an attempt to review available data on the species complex studied based on our collection from Russia, Belarus, and Kazakhstan. The subspecies *A. c. caliginosa* is represented in Russia by two genetic lineages, 2 and 3, the former being the prevalent (about 73 % of the total sample). Additionally, these lineages have different distributions: while lineage 2 was found in almost all locations studied, lineage 3 was detected only in a few samples from the periphery of the region studied. The genetic diversity of lineage 2 significantly exceeded that of lineage 3, and its estimated divergence time was almost three times as high. A subset of individuals with pigmentation characteristic of *A. c. caliginosa* contained *cox1* haplotypes of *A. c. trapezoides*; analysis of nuclear gene sequences confirmed this diagnosis. Thus, pigmentation intensity in this subspecies was demonstrated to vary to a significant degree. In addition, we analyzed two *A. longa* individuals from West Siberia and the Urals; their *cox1* sequences were identi-

cal to those from the lineage 1 of this species from the north of Western Europe. These are the first reports of *A. c. trapezoides* and *A. longa* from West Siberia. On the whole, both genetic diversity and abundance was shown to decrease in the following series: *A. c. caliginosa* lineage 2 – *A. c. caliginosa* lineage 3 – *A. c. trapezoides* and *A. longa*.

Key words: earthworms; peregrine species; Lumbricidae; Russia; *cox1*; cytochrome oxidase.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Шеховцов С.В., Голованова Е.В., Базарова Н.Э., Белова Ю.Н., Берман Д.И., Держинский Е.А., Шашков М.П., Пельтек С.Е. Генетическое разнообразие видов комплекса *Aporrectodea caliginosa* на территории России. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(3):374-379. DOI 10.18699/VJ17.255

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Shekhovtsov S.V., Golovanova E.V., Bazarova N.E., Belova Yu.N., Berman D.I., Derzhinsky E.A., Shashkov M.P., Peltek S.E. Genetic diversity of the *Aporrectodea caliginosa* complex in Russia. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(3):374-379. DOI 10.18699/VJ17.255

Дождевые черви играют ключевую роль в жизни почвенных сообществ и во многом определяют продуктивность почв. В настоящее время описано около 4000 видов дождевых червей (Hendrix et al., 2008), из которых на территории России встречается около 60 (Всеволодова-Перель, 1997). При этом особо важное значение имеет небольшая группа, состоящая из нескольких десятков видов-космополитов (Michaelson, 1903; Hendrix et al., 2006; Tiunov et al., 2006; Hendrix et al., 2008; Blakemore, 2009, 2012). Считается (Hendrix et al., 2008), что до начала голоцена ареал сем. Lumbricidae, включающего в себя приблизительно 385 видов, был ограничен территорией на юге Западной Европы, не подвергавшейся оледенению. За пределы этой зоны смогли выйти всего лишь около 20, большинство из них заселили и другие континенты. Особенно сильны изменения в составе сообществ дождевых червей на землях, находящихся под антропогенным воздействием, однако в естественных местообитаниях космополиты также зачастую вытесняют местные виды (Tiunov et al., 2006).

К этой группе относится и комплекс видов *Aporrectodea caliginosa* Savigny, 1826. Представители его встречаются на всех континентах (за исключением Антарктиды). Нередко утверждают, что черви комплекса *A. caliginosa* – самые многочисленные и часто встречающиеся на сельскохозяйственных землях и лугах умеренной зоны Палеарктики (Pérez-Losada et al., 2009).

Комплекс *A. caliginosa* включает в себя четыре подвида: *A. c. caliginosa* Savigny, 1826; *A. c. trapezoides* Dugés (1828); *A. c. nocturna* (Evans, 1946) и *A. c. tuberculata* (Eisen, 1874) (Pérez-Losada et al., 2009). Первые два встречаются на территории России (Перель, 1979; Всеволодова-Перель, 1997). Следует отметить, что в западной литературе названные таксоны считаются отдельными видами, а в отечественной – подвидами (Всеволодова-Перель, 1997; Pérez-Losada et al., 2009). Этот таксономический вопрос окончательно не разрешен, и в данной работе мы принимаем отечественную систему.

Морфологические различия между подвидами не всегда выражены четко. Так, *A. c. trapezoides* и *A. c. nocturna* пигментированы, а *A. c. caliginosa* и *A. c. tuberculata* – нет; при этом нередко встречаются черви с промежуточной окраской (Pérez-Losada et al., 2009). Считается, что у представителей всех четырех подвидов поясок располага-

ется на одних и тех же сегментах, тем не менее зачастую можно обнаружить отклонения от диагноза (Shekhovtsov et al., 2016a). Различия между подвидами касаются также формы и положения пубертатных валиков, однако описаны различные промежуточные варианты этих признаков (Pérez-Losada et al., 2009).

Известно, что для комплекса *A. caliginosa*, как и для многих других видов дождевых червей, характерна высокая скрытая генетическая изменчивость (Pérez-Losada et al., 2009; Fernández et al., 2011a, 2012, 2013; Porco et al., 2013; Shekhovtsov et al., 2016a). М. Pérez-Losada с коллегами (2009) показали, что в пределах комплекса можно выделить две ветви, одна из которых включает в себя *A. c. caliginosa* и *A. c. tuberculata*, вторая – *A. c. trapezoides* и *A. c. nocturna*. Кроме того, молекулярно-генетические данные дают основания отнести к комплексу еще вид *A. longa* (Ude, 1826), а также, возможно, и некоторые другие средиземноморские виды рода *Aporrectodea*.

Анализ комплекса *A. caliginosa*, проведенный R. Fernández с коллегами (2012), в целом подтвердил выводы М. Pérez-Losada с коллегами (2009): представители *A. longa* также оказались близкими родственниками *A. caliginosa*, как и *A. giardi* (Ribaucourt, 1901) и три вида рода *Nicodrilus* (*N. monticola* Ontenienta & Babio, 2002, *N. tetramammalis* Ontenienta & Babio, 2002 и *N. carochensis* Ontenienta & Babio, 2002). Время дивергенции видов, входящих в комплекс, по данным авторов, приходится на плиоцен – конец миоцена.

Известно, что для многих видов дождевых червей характерно присутствие нескольких сильно дивергировавших филогенетических линий, морфологические различия между которыми обычно не выражены. Для вида *A. longa* это было показано в работе (King et al., 2008); для *A. c. caliginosa* и *A. c. trapezoides* – в статьях (Pérez-Losada et al., 2009; Fernández et al., 2012). Величина генетических расстояний по митохондриальной ДНК между названными линиями соответствовала уровню межвидовых различий (около 10%), а на филогенетических деревьях в пределах комплекса линии были расположены в самых разных местах. Если основываться лишь на данных молекулярно-генетического анализа, то эти филогенетические линии можно квалифицировать как виды-двойники; тем не менее показано, что они нередко обитают симпатрично и не имеют каких-либо морфологических или экологических

различий. Кроме того, материалов по различиям между ядерными геномами обсуждаемых линий на настоящий момент недостаточно.

Географическая распространенность филогенетических линий изучена слабо. Наиболее подробные данные имеются для *A. c. trapezoides*. R. Fernández с коллегами (2011a, 2013) показали, что подвид включает в себя две филогенетические линии (каждую из которых можно, в свою очередь, разделить на несколько групп), и границу их распространенности можно провести приблизительно по 42-й параллели. Исходя из этого, авторы заключили, что линия 1 имеет евросибирский ареал, а линия 2 – средиземноморский. Этот вывод, однако, может оказаться преждевременным, так как за пределами Испании исследовано мало точек. Кроме того, авторы показали, что в эндемичных популяциях генетическое разнообразие заметно выше, чем в интродуцированных.

Это мнение противоречит заключению D. Porco с коллегами (2013), которые изучали ряд видов сем. Lumbricidae, включая *A. c. caliginosa*, в западноевропейских и североамериканских популяциях. Полученные ими материалы в целом свидетельствуют о том, что генетическое разнообразие эндемичных и интродуцированных популяций сравнимо. Следует отметить, что выводы нуждаются в некотором уточнении, так как выборки были невелики и эндемичность европейских популяций может вызывать сомнение.

В пределах *A. c. caliginosa* авторы обнаружили три филогенетические линии (в работах (Pérez-Losada et al., 2009; Fernández et al., 2012) было упомянуто лишь две). Линия 1 встречается только в Европе и, скорее всего, представляет собой какой-то близкородственный вид. Для линии 2 было характерно некоторое снижение генетического разнообразия в Америке по сравнению с Европой, для линии 3 – одинаково высокий уровень генетического разнообразия.

Наша группа исследовала популяции *A. c. caliginosa* из разных регионов России (Shekhovtsov et al., 2016a). В нашей выборке была обнаружена преимущественно филогенетическая линия 2 подвида, в то время как ареал линии 3 был сильно ограничен. Кроме того, линия 2 во всех регионах, включая Дальний Восток, имеет одинаково большое генетическое разнообразие, тогда как в линии 3 оно заметно снижается с запада на восток. Таким образом, названные филогенетические линии *A. c. caliginosa* имеют совершенно разную географию, хотя никаких морфологических или экологических различий между ними не известно и встречаются они зачастую симпатрично.

В настоящей работе проанализированы полученные нами и литературные данные по генетике представителей комплекса *A. caliginosa* на территории России, Беларуси и Казахстана.

Материалы и методы

Коллекция *A. caliginosa* собрана в 2011–2016 гг., она хранится в лаборатории молекулярных биотехнологий ИЦиГ СО РАН (Новосибирск). Точки сбора показаны на рис. 1. Червей фиксировали 96 % этанолом. Для выделения ДНК использовали несколько хвостовых сегментов особи. Выделение ДНК проводили при помощи наборов фирмы

BioSilica (Новосибирск) в соответствии с протоколом производителя.

Последовательности фрагмента митохондриального гена цитохромоксидазы 1 (*cox1*) амплифицировали при помощи универсальных праймеров LCO1490m (5'-TACTC-AACAA-ATCAG-AAAGA-TATTG-G-3') (Folmer et al., 1994, с модификациями) и COI-E- (5'-TATAC-TTCTG-GGTGTCCGAA-GAATC-A-3') (Bely, Wray, 2004). Использовали следующий профиль амплификации: 2 мин при 94 °C; 35 циклов: 20 с при 94 °C, 20 с при 55 °C, 50 с при 72 °C; 5 мин при 72 °C.

Для амплификации фрагмента гена гистона H3 применяли универсальные праймеры H3a-F (5'-ATGGC-TCGTA-CCAAG-CAGAC-VGC-3') и H3a-R (5'-ATATC-CTTRG-GCATR-ATRGT-GAC-3'), взятые из работы (Colgan et al., 1998), со следующим профилем амплификации: 2 мин при 94 °C; 5 циклов: 20 с при 94 °C, 20 с при 45 °C, 50 с при 72 °C; 30 циклов: 20 с при 94 °C, 20 с при 53 °C, 50 с при 72 °C; 5 мин при 72 °C.

Секвенирование полученных фрагментов проводили при помощи набора BigDye 3.1 (Applied Biosystems). Капиллярный электрофорез был выполнен в Коллективном центре секвенирования СО РАН (Новосибирск). Ручную обработку полученных последовательностей проводили в программе Chromas. Вычисление гаплотипического и нуклеотидного разнообразия и анализ распределения попарных замен выполнены в программе Arlequin v.3.1 (Excoffier et al., 2005).

Для анализа данных были взяты последовательности *cox1* *A. c. caliginosa*, опубликованные в наших предыдущих работах: KP789177–KP789310, KF471787–92, KF471831–KF471842 (Shekhovtsov et al., 2014a); KF471778–KF471786, KF471793–KF471830, KF471843–KF472049, KU358729–KU358873 (Shekhovtsov et al., 2016a). Кроме того, исследованная выборка включала в себя последовательности из статей (Porco et al., 2013; Martinsson et al., 2015).

Результаты и обсуждение

В ходе работы секвенировано 125 последовательностей представителей комплекса *A. caliginosa*, а 436 взято из наших предыдущих работ. В выборке с территории России и сопредельных государств 460 особей относились к митохондриальной линии 2, а 90 – к линии 3. Кроме того, для *A. c. caliginosa* анализировали и выборку, включающую в себя наряду с указанными выше последовательностями еще и материалы зарубежных исследователей. Эта полная выборка состояла из 496 последовательностей филогенетической линии 2 и 180 последовательностей линии 3.

Обнаружено, что линия 3 на территории нашей страны встречается значительно реже линии 2. В нашей выборке она составляла лишь 16.4 % от общего числа особей *A. c. caliginosa*. Ареал ее также заметно меньше, чем линии 2: из рис. 1 видно, что большая часть червей этой линии собрана на периферии нашей выборки. Более того, в пределах каждой из проанализированных точек сбора (за исключением г. Петропавловска-Камчатского) линия 3 встречалась совместно с линией 2. Показатели генетической изменчивости линии 3 заметно ниже (см.

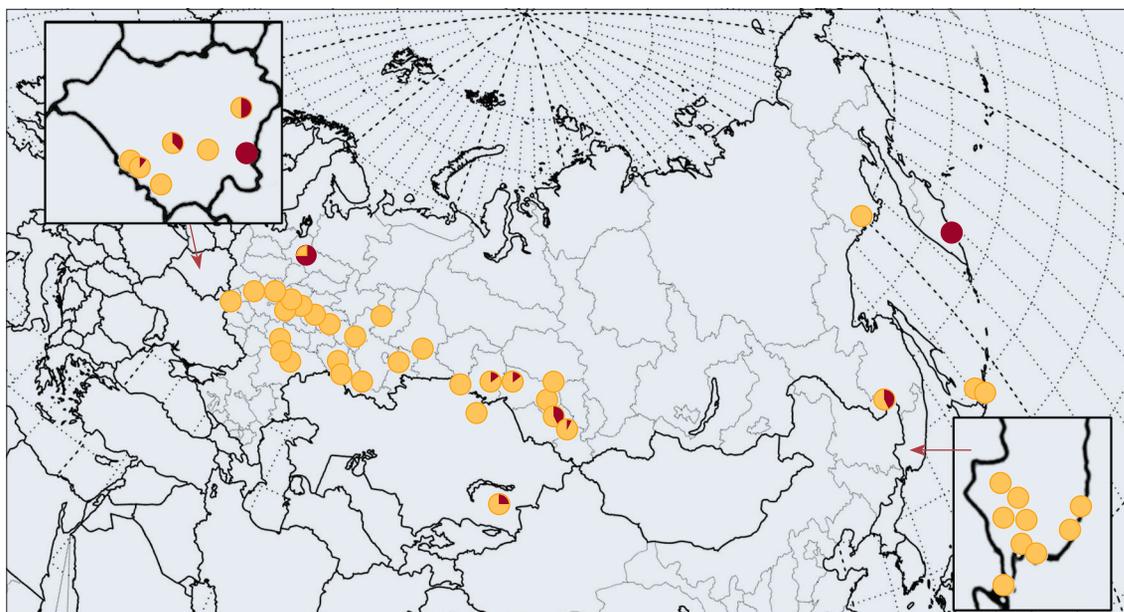


Fig. 1. Localities of *A. c. caliginosa* sampling for this work. Yellow circles, lineage 2; red circles, lineage 3. Sector areas are proportional to the shares of the lineages.

Genetic diversity of the *A. caliginosa* complex in our specimens

Lineage	<i>N</i>	<i>n</i>	<i>s</i>	<i>h</i> (SD)	<i>pi</i> (SD)
<i>A. c. caliginosa</i> L2	460	50	57	0.940 (0.005)	0.01267 (0.0065)
<i>A. c. caliginosa</i> L3	90	10	30	0.755 (0.033)	0.0036 (0.0022)
<i>A. c. trapezoides</i> L1	9	1	–	–	–
<i>A. longa</i>	2	1	–	–	–

N, number of individuals; *n*, number of unique haplotypes; *s*, number of polymorphic sites; *h* (SD), haplotypic diversity (standard deviation); *pi* (SD), nucleotide diversity (standard deviation).

таблицу). Следует уточнить, что в Беларуси выявлено в общей сложности восемь гаплотипов, тогда как во всей азиатской части России – всего три.

Отчасти эти различия можно объяснить тем, что большая часть образцов собрана в восточных районах, где филогенетическая линия 3 редка. Тем не менее включение в выборки последовательностей из зарубежных популяций существенно не изменило соотношение генетической изменчивости линий. Так, параметр τ , получаемый при анализе попарных замен и оценивающий время дивергенции между выборками, для полной выборки линии 2, включавшей в себя и все доступные зарубежные образцы, составлял 11.889 (интервал 95% вероятности 5.990–15.543), а для линии 3 – 3.988 (1.750–5.352). Значения этого параметра пропорциональны возрасту линий. Если принять оценку скорости молекулярных часов равной 2.4% на нуклеотид на миллион лет (Fernández et al., 2012), а срок жизни поколения – двум годам (Шашков, 2016), то время дивергенции линии 2 можно оценить как 753 тыс. лет (379–984 тыс. лет), линии 3 – 253 тыс. лет (111–339 тыс. лет).

Меньшая встречаемость линии 3 по сравнению с линией 2 обусловлена, вероятно, меньшей численностью интродуцированных особей, что ведет и к уменьшению генетического разнообразия. Кроме того, расселение линии 3 на восток было не постепенным, а скачкообразным, о чем говорит присутствие ее в Западной Сибири при полном отсутствии в нашей довольно обширной выборке с востока Восточно-Европейской равнины и Урала.

Последовательности *cox1* девяти образцов из четырех точек (рис. 2) оказались идентичны одному из гаплотипов *A. c. trapezoides* из работы (Fernández et al., 2011a), а именно клону 8, относящемуся к филогенетической линии 1, группе С. Линия 1, в отличие от линии 2 этого подвида, по мнению авторов (Fernández et al., 2011a), имеет евросибирский ареал, а группа С была обнаружена на юге Франции и в Польше. Для этой линии характерно высокое генетическое разнообразие, в то время как в нашей выборке, несмотря на заметное расстояние между географическими точками, обнаружен лишь один вариант последовательности *cox1*. Сказанное может свидетельствовать о том, что при расселении *A. c. trapezoides* на восток происходило

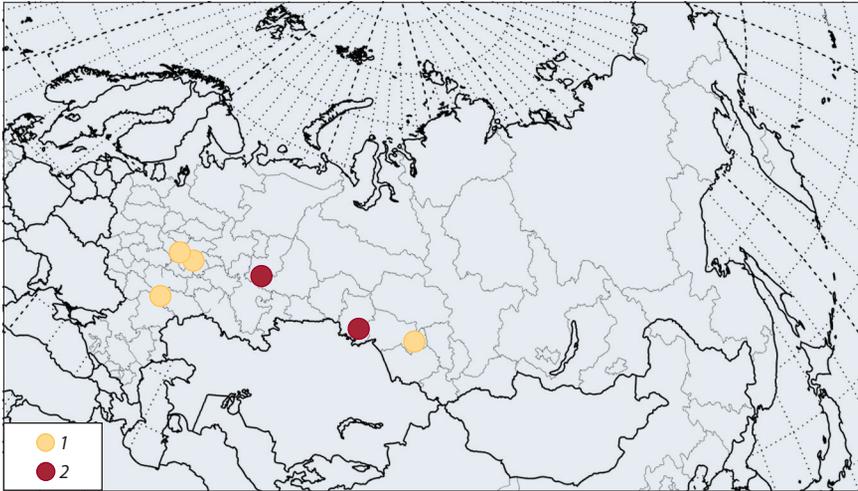


Fig. 2. Localities of *A. c. trapezoides* (1) и *A. longa* (2) sampling for this work.

заметное уменьшение генетического разнообразия, аналогично выявленному для линии 3 *A. c. caliginosa*.

У всех червей, по генетическим данным отнесенных к *A. c. trapezoides*, отсутствовала пигментация. Более того, во всех случаях особи обоих подвидов были обнаружены симпатрично и никаких морфологических различий между собой не имели. Присутствие гаплотипов *A. c. trapezoides* могло означать как действительную симпатрию двух подвидов, так и интрогрессию мтДНК от одного подвида к другому (случаи предполагаемой гибридизации между видами и отсутствия различий между ядерными геномами при сильно различающихся мтДНК встречаются нередко) (Shekhovtsov et al., 2014b, 2016b; Giska et al., 2015; Martinsson et al., 2016). Заметим, что *A. c. trapezoides* является партеногенетическим, в отличие от *A. c. caliginosa* (Omodeo, 1952; Гарбар и др., 2007), но между различными его популяциями степень развития половой системы может варьировать от практически полноценной до полностью дегенерировавшей (Fernández et al., 2011b), т. е. вероятность хотя бы редкого обмена генами между этими подвидами в прошлом исключить нельзя. Для того, чтобы выяснить, какая из этих гипотез верна, мы просеквенировали ядерные последовательности гена гистона H3 у некоторых образцов и обнаружили, что идентификация по мтДНК совпадает с таковой по ядерным генам. Таким образом, непигментированный *A. c. trapezoides* действительно встречается симпатрично с линией 2 *A. c. caliginosa*. Кроме того, найденные нами на площадке возле теплиц ИЦиГ СО РАН представители этого подвида – первая находка его в Сибири.

Так как М. Pérez-Losada с коллегами (2009) и R. Fernández с коллегами (2012) отнесли *A. longa* к комплексу *A. caliginosa*, мы также прогенотипировали два образца этого червя из окрестностей Омска и Краснокамска (см. рис. 2). Известно, что в пределах данного вида выделены две митохондриальные филогенетические линии (Martinsson et al., 2016). Анализ рибосомальных спейсеров и гистоновых генов, однако, показал, что на уровне ядерного генома различия между этими линиями практически не выражены (Martinsson et al., 2016).

Оба наших образца имели идентичные последовательности *cox1*, которые относились к линии 1 *A. longa*. Известно, что эта линия имеет значительно более ограниченную распространенность по сравнению с линией 2 и до сих пор была обнаружена лишь в Великобритании, Норвегии, Швеции и Канаде. Таким образом, наши данные заметно расширяют ее ареал.

Наиболее актуальной на данный момент сводкой по дождевым червям России можно, безусловно, назвать монографию «Дождевые черви фауны России: кадастр и определитель» (Всеволодова-Перель, 1997). В этой работе *A. c. caliginosa* в Западной Сибири отнесен к синантропным видам и отмечен лишь в немногих точках. Прочие сочлены комплекса не отмечены ни в Западной

Сибири, ни на Урале. В настоящее время *A. c. caliginosa* на юге Западной Сибири – один из самых распространенных дождевых червей вблизи больших городов, где он обычен не только на полях и в огородах, но и во многих естественных биотопах. Таким образом, можно предполагать существенное расширение ареалов всех представителей комплекса на восток. Маловероятно, чтобы эти банальные и, как правило, массовые виды были пропущены специалистами, однако нельзя исключить эту возможность, поскольку исследователей и, соответственно, публикаций по Сибири в целом немного.

Заметим, что в данной работе приведены первые находки *A. c. caliginosa* для Магаданской и Еврейской автономной областей, а *A. c. trapezoides* и *A. longa* – для Западной Сибири (см. рис. 1, 2). Кроме того, *A. caliginosa* неустановленного подвида обнаружен нами в окрестностях г. Хабаровска, но не использован в генетическом анализе.

Таким образом, известный ранее ареал представителей комплекса *A. caliginosa* заметно расширен. В ряду *A. c. caliginosa* линия 2 – *A. c. caliginosa* линия 3 – *A. c. trapezoides* и *A. longa* наблюдается уменьшение и генетического разнообразия, и частоты их встречаемости. Конечно, малый объем выборки обуславливает сокращение генетического разнообразия. Тем не менее можно предполагать, что именно различие в числе успешных событий интродукции привело к наблюдаемой разнице во встречаемости представителей комплекса и в их генетическом разнообразии.

Acknowledgments

This study was supported by State Budgeted Project 0324-2016-0003 and the President of the Russian Federation project МК 6685.2015.4.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Bely A.E., Wray G.A. Molecular phylogeny of nauid worms (Annelida: Clitellata) based on cytochrome oxidase I. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2004;30:50-63. DOI 10.1016/S1055-7903(03)00180-5.

- Blakemore R.J. Cosmopolitan earthworms – a global and historical perspective. *Annelids in Modern Biology*. Ed. D.H. Shain. 2009;257-283. DOI 10.1002/9780470455203.ch14.
- Blakemore R.J. *Cosmopolitan Earthworms – an Eco-taxonomic Guide to the Peregrine Species of the World*. Yokohama. VermEcology, 2012.
- Colgan D.J., Mclachlan A., Wilson G.D.F., Livingston S.P., Edgecombe G.D., Macaranas J., Cassis G., Gray M.R. Histone H3 and U2 snRNA DNA sequences and arthropod molecular evolution. *Aust. J. Zool.* 1998;46:419-437. DOI 10.1071/zo98048.
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform. Online*. 2005;1:47-50.
- Fernández R., Almodóvar A., Novo M., Gutiérrez M., Díaz Cosín D.J. A vagrant clone in a peregrine species: phylogeography, high clonal diversity and geographical distribution in the earthworm *Aporrectodea trapezoides* (Dugès, 1828). *Soil Biol. Biochem.* 2011a;43:2085-2093. DOI 10.1016/j.soilbio.2011.06.007.
- Fernández R., Bergmann P., Almodóvar A., Cosín D.J.D., Heethoff M. Ultrastructural and molecular insights into three populations of *Aporrectodea trapezoides* (Dugès, 1828) (Oligochaeta, Lumbricidae) with different reproductive modes. *Pedobiologia*. 2011b;54:281-290. DOI 10.1016/j.pedobi.2011.04.003.
- Fernández R., Almodóvar A., Novo M., Simancas B., Díaz Cosín D.J. Adding complexity to the complex: New insights into the phylogeny, diversification and origin of parthenogenesis in the *Aporrectodea caliginosa* species complex (Oligochaeta, Lumbricidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 2012;64(2):368-379. DOI 10.1016/j.ympev.2012.04.011.
- Fernández R., Almodóvar A., Novo M., Gutiérrez M., Díaz Cosín D.J. Earthworms, good indicators for palaeogeographical studies? Testing the genetic structure and demographic history in the peregrine earthworm *Aporrectodea trapezoides* (Dugès, 1828) in southern Europe. *Soil Biol. Biochem.* 2013;58:127-135. DOI 10.1016/j.soilbio.2012.10.021.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotech.* 1994;3:294-299.
- Garbar A.V., Vlasenko R.P., Mezhhzherin S.V. The comparative morphological analysis of diploid *Aporrectodea caliginosa* and triploid *A. trapezoides* earthworm species (Oligochaeta, Lumbricidae) in Ukraine. *Vestnik Zoologii = Herald of Zoology*. 2007;41:423-432. (in Russian)
- Giska I., Sechi P., Babik W. Deeply divergent sympatric mitochondrial lineages of the earthworm *Lumbricus rubellus* are not reproductively isolated. *BMC Evol. Biol.* 2015;15:217. DOI 10.1186/s12862-015-0488-9.
- Hendrix P.F., Baker G.H., Callahan M.A., Damoff G.A., Fragoso C., Gonzalez G., James S.W., Lachnicht S.L., Winsome T., Zou X. Invasion of exotic earthworms into ecosystems inhabited by native earthworms. *Biol. Invasions*. 2006;8:1287-1300. DOI 10.1007/s10530-006-9022-8.
- Hendrix P.F., Callahan M.A., Drake J.M., Huang C.-Y., James S.W., Snyder B.A., Zhang W. Pandora's box contained bait: the global problem of introduced earthworms. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 2008;39:593-613. DOI 10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173426.
- King R.A., Tibble A.L., Symondson W.O.C. Opening a can of worms: unprecedented sympatric cryptic diversity within British lumbricid earthworms. *Mol. Ecol.* 2008;17(21):4684-4698. DOI 10.1111/j.1365-294X.2008.03931.x.
- Martinsson S., Cui Y., Martin P.J., Pinder A., Quinlan K., Wetzel M.J., Erséus C. DNA-barcoding of invasive European earthworms (Clitellata: Lumbricidae) in south-western Australia. *Biol. Invasions*. 2015;17:2527. DOI 10.1007/s10530-015-0910-7.
- Martinsson S., Rhodén C., Erséus C. Barcoding gap, but no support for cryptic speciation in the earthworm *Aporrectodea longa* (Clitellata: Lumbricidae). *Mitochondrial DNA*. 2016. DOI 10.3109/19401736.2015.1115487.
- Michaelsen W. *Die geographische Verbreitung der Oligochaeten*. Berlin: Friedländer & Sohn, 1903.
- Omodeo P. *Cariologia dei Lumbricidae*. *Caryologia*. 1952;4:173-275.
- Perel T.S. *Rasprostranennost' i zakonomernosti raspredeleniya dozhdevykh chervev fauny SSSR [Range and regularities in the distribution of earthworms in the USSR]*. Moscow: Nauka Publ., 1979. (in Russian)
- Pérez-Losada M., Ricoy M., Marshall J.C., Domínguez J. Phylogenetic assessment of the earthworm *Aporrectodea caliginosa* species complex (Oligochaeta: Lumbricidae) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2009;52:293-302. DOI 10.1016/j.ympev.2009.04.003.
- Porco D., Decaëns T., Deharveng L., James S.W., Skarzynski D., Erséus C., Butt K.R., Richard B., Hebert P.D.N. Biological invasions in soil: DNA barcoding as a monitoring tool in a multiple taxa survey targeting European earthworms and springtails in North America. *Biol. Invasions*. 2013;15:899-910. DOI 10.1007/s10530-012-0338-2.
- Shashkov M.P. Population demographic approaches to studies of earthworms in the forests of Kaluga Oblast. *Lesovedenie = Russian Journal of Forest Science*. 2016;1:55-64. (in Russian)
- Shekhovtsov S.V., Golovanova E.V., Peltek S.E. Invasive lumbricid earthworms of Kamchatka (Oligochaeta). *Zoological Studies*. 2014a;53:52. DOI 10.1186/s40555-014-0052-0.
- Shekhovtsov S.V., Golovanova E.V., Peltek S.E. Genetic diversity of the earthworm *Octolasion tyrtaeum* (Lumbricidae, Annelida). *Pedobiologia*. 2014b;57:245-250. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pedobi.2014.09.002>.
- Shekhovtsov S.V., Golovanova E.V., Peltek S.E. Different dispersal histories of lineages of the earthworm *Aporrectodea caliginosa* (Lumbricidae, Annelida) in the Palearctic. *Biol. Invasions*. 2016a;18:751-761. DOI 10.1007/s10530-015-1045-6.
- Shekhovtsov S.V., Golovanova E.V., Peltek S.E. Cryptic genetic lineages in *Eisenia nordenskioldi pallida* (Oligochaeta, Lumbricidae) Eur. J. Soil Biol. 2016b;75:151-156 DOI 10.1016/j.ejsobi.2016.06.004.
- Tiunov A.V., Hale C.M., Holdsworth H.M., Vsevolodova-Perel T.S. Invasion patterns of Lumbricidae into the previously earthworm-free areas of northeastern Europe and the western Great Lakes region of North America. *Biol. Invasions*. 2006;8:1223-1234. DOI 10.1007/s10530-006-9018-4.
- Vsevolodova-Perel T.S. *Dozhdevye chervi Rossii: kadastr i opredelitel' [The earthworms of the fauna of Russia: cadaster and key]*. Moscow: Nauka Publ., 1997. (in Russian)